昆虫学报 *Acta Entomologica Sinica*，January 2007，50(1)：25－30 ISSN 0454-6296

棉铃虫田间种群 Bt 毒素 Cry1Ac 抗性基因频率的估算

陈海燕，杨亦桦，武淑文，杨亚军，吴益东[*]

（南京农业大学植物保护学院昆虫学系，农业部病虫监测与治理重点开放实验室，南京 210095）

摘要：采用改进的 F_1 筛查法检测了 2005 年采自华北地区的棉铃虫 *Helicoverpa armigera*（Hübner）田间种群对 Bt 毒素 Cry1Ac 的抗性基因频率。2005 年从河南安阳和河北沧县转 Bt 基因抗虫棉上采集二代棉铃虫卵，在室内用人工饲料饲养至 2 龄幼虫，用 $1\ \mu g/cm^2$ 的 Cry1Ac 活化毒素进行初筛，将初筛存活成虫与室内筛选的 GYBT 抗性品系成虫进行单对杂交，并用区分剂量（$2.5\ \mu g/cm^2$）对 F_1 代进行检测。经检测，2005 年河南安阳棉铃虫种群和河北沧县棉铃虫种群对 Cry1Ac 抗性基因频率基本一致，分别为 1.4×10^{-3} 和 1.5×10^{-3}。用毒素涂表法测定了 2004、2005 年采自河南安阳、河北高阳、河北沧县、新疆阿克苏和新疆沙湾棉铃虫田间种群对 Cry1Ac 活化毒素的敏感性水平，结果表明华北棉区与新疆内陆棉区棉铃虫种群对 Cry1Ac 的敏感性存在一定的地区性差异（<8 倍）。总体上，我国华北棉区棉铃虫种群对 Cry1Ac 还未产生明显抗性，抗性基因频率处于正常水平。棉铃虫对转 Bt 基因抗虫棉的抗性风险依然存在，需要尽快启动全国性的早期抗性检测和预警工作。

关键词：棉铃虫；转 Bt 基因棉；Bt δ-内毒素；Cry1Ac；抗性等位基因；抗性检测

中图分类号：Q965.9 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2007)01-0025-06

Estimated frequency of resistance alleles to Bt toxin Cry1Ac in the field populations of *Helicoverpa armigera*（Hübner）from Northern China

CHEN Hai-Yan，YANG Yi-Hua，WU Shu-Wen，YANG Ya-Jun，WU Yi-Dong[*]（Key Laboratory of Monitoring and Management of Plant Diseases and Pest Insects，Ministry of Agriculture，Department of Entomology，College of Plant Protection，Nanjing Agricultural University，Nanjing 210095，China）

Abstract：An improved F_1 screen technique was used to estimate the frequency of alleles conferring resistance to Bt cotton producing the Cry1Ac toxin in field populations of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*（Hübner）collected from Northern China in 2005. Eggs were collected from Bt cotton in Anyang of Henan Province and Cangxian of Hebei Province，respectively. The collected eggs were reared with artificial diet in the laboratory. The 2nd instar larvae were subjected to a primary selection with $1\ \mu g/cm^2$ activated Cry1Ac，and the survivors were individually mated with moths from a laboratory-selected resistant GYBT strain. After screening F_1 with a discriminating dose of $2.5\ \mu g/cm^2$ activated Cry1Ac，we estimated the field resistance frequency of 1.4×10^{-3} for Anyang population from Henan Province，and 1.5×10^{-3} for Cangxian population from Hebei Province. Susceptibility of five field populations of *H. armigera* collected from Northern China cotton area and Xinjiang cotton area during 2004－2005 was investigated using a surface contamination bioassay. Geographic variations（$<$ 8-fold）were found between these populations. In general，the field populations of *H. armigera* in Northern China have not evolved prominent resistance to Cry1Ac，and their resistance frequency to Cry1Ac is at a normal level. But Bt resistance risk still exists，and the early resistance detection and alarming system should be initiated in China as early as possible.

Key words：*Helicoverpa armigera*；Bt cotton；Bt δ-endotoxin；Cry1Ac；resistance allele；resistance detection

---

基金项目：国家自然科学基金项目（30571233）；国家'863'项目（2004AA249040）

作者简介：陈海燕，女，1980 年生，硕士研究生，研究方向为昆虫分子毒理学，E-mail：hychen_80@yahoo.com.cn

[*] **通讯作者** Author for correspondence，E-mail：wyd@njau.edu.cn

收稿日期 Received：2006-05-17；**接受日期** Accepted：2006-08-17

棉铃虫 *Helicoverpa armigera*（Hübner）是危害棉花的一种重要世界性害虫。20 世纪 90 年代初，由于棉铃虫对化学杀虫剂产生严重抗性而导致其在我国北方棉区连年大暴发。自 1996 年我国河北省从孟山都公司引入转 Bt 基因抗虫棉（以下简称 Bt 抗虫棉）以来，Bt 抗虫棉在我国的种植面积不断扩大，至 2005 年 Bt 抗虫棉的种植面积达到 330 万公顷，占全国棉花总种植面积的 66%（James，2005）。但是由于 Bt 抗虫棉在整个生育期都连续表达 Bt 毒素（Cry1Ac），从而使棉铃虫处于 Bt 毒素的持续选择压力下，棉铃虫对 Bt 抗虫棉的潜在抗性风险已成为影响其使用寿命的关键因素。一旦棉铃虫对 Bt 毒素产生抗性，造成的损失将是巨大的、空前的。

经室内筛选，已经有 10 余种昆虫对 Bt 蛋白和 Bt 抗虫植物产生了抗性（Gould *et al*.，1995；Morin *et al*.，2003；Tabashnik *et al*.，2003），这充分证明了昆虫具备对 Bt 毒素产生抗性的能力。在中国和澳大利亚，已通过室内筛选获得了多个对 Bt 毒素（Cry1Ac）高抗的棉铃虫品系（梁革梅等，2000；Akhurst *et al*.，2003；Meng *et al*.，2004；Xu *et al*.，2005）。棉铃虫对 Cry1Ac 的抗性通常为位于常染色体上的不完全隐性的单基因控制。王桂荣等（2004）报道棉铃虫中肠 Bt 毒素受体钙粘蛋白表达量降低可能是棉铃虫对 Cry1Ac 产生抗性的主要原因之一。Xu 等（2005）报道棉铃虫钙粘蛋白基因突变使其不能产生正常的钙粘蛋白，使 Bt 毒素丧失结合受体，因而对 Cry1Ac 产生抗性。

Bt 抗虫棉在我国已有近 10 年的种植史，目前在我国华北棉区种植的所有棉花（或接近 100%）均为 Bt 抗虫棉，在一些地区也发现 Bt 抗虫棉抗虫效果不太理想。大家普遍关心的问题是：我国的棉铃虫对 Cry1Ac 会不会产生抗性？目前有没有抗性？对第一个问题的回答是肯定的，只要 Bt 抗虫棉一直使用，田间棉铃虫种群肯定会对 Cry1Ac 产生抗性，只不过是何时产生抗性的问题。而对于第二个问题的界定则需要大量的检测和研究工作。

我们已经具备了一个在实验室内筛选的对 Cry1Ac 活化毒素高抗的纯合品系 GYBT（Xu *et al*.，2005）。在此基础上，本实验采用一种改进的 F_1 筛查法检测了我国华北棉区 2 个棉铃虫田间种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率；并用毒素涂表法测定了 2004、2005 年夏季采自河南安阳、河北高阳、河北沧县、新疆阿克苏、新疆沙湾的棉铃虫田间种群对 Cry1Ac 活化毒素的敏感性水平。

1 材料和方法

1.1 试虫采集及饲养

2005 年 7 月初，在河北沧县和河南安阳 Bt 抗虫棉种植区分别在 40 公顷左右的范围内随机、大量地采集数万粒二代棉铃虫卵。用毛笔将卵粒从抗虫棉叶片上刷下，在室内用人工饲料饲养到 2 龄初，供抗性基因频率检测用。

在 2004 年，采集了河北高阳地区的二代棉铃虫卵（室内饲养至 2 龄初直接测定），新疆内陆棉区阿克苏和沙湾两个地区二代棉铃虫蛹（对其 F_1 代进行测定），分别建立种群，并检测这些种群对 Cry1Ac 活化毒素的毒力回归线。

棉铃虫 GYBT 品系为室内通过 Cry1Ac 活化毒素筛选获得的抗性品系，该品系是钙粘蛋白基因突变纯合品系，对 Cry1Ac 具有 500 ~ 1 000 倍左右的抗性水平（Xu *et al*.，2005）。

1.2 生物测定方法

生物测定采用毒素涂表法：（1）取已冷却凝结的棉铃虫人工饲料，以切片器将之切成 3 mm 厚的薄片，然后用打孔器制成圆片状，用镊子将其放入 24 孔培养板底部；（2）将 24 孔培养板每一个孔中的一片饲料压实，使饲料片与培养板底部和侧壁的接触处不留空隙，并将孔口、孔壁可能粘结的饲料清理干净；（3）将 Cry1Ac 活化毒素以 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液（pH 7.5）配成 5 个浓度梯度，每孔加入 100 μL 的毒素溶液，每个浓度准备二块 24 孔培养板，室温下晾干后备用；（4）在 24 孔培养板中每孔接入 1 头 2 龄初幼虫（体重 1 mg 左右），用两层尼龙纱覆盖防止虫子逃跑，置于恒温光照培养箱（26 ± 1℃），5 天后检查结果；（5）完全死亡或生长发育受到严重抑制（体重小于 5 mg）的都作为死亡。生测数据用 POLO 软件处理，计算毒力回归方程的斜率（*b* 值）、LC_{50} 值及 95% 置信限。

1.3 抗性基因频率检测方法（改进的 F_1 筛查法）

用能杀死敏感品系 95% 个体的 Cry1Ac 活化毒素剂量（1 μg/cm^2，*ss* 基因型的 LC_{95}，根据抗性遗传分析的结果而确定）对田间种群的 2 龄幼虫进行初筛，将初筛存活幼虫饲养至成虫后与室内纯合抗性品系（GYBT）的成虫进行单对交配（一头室内抗性品系雌成虫与一头田间品系雄成虫交配，或者一头室内抗性品系雄成虫与一头田间品系雌成虫交配）。收集每一个单对的有效卵，对每一个单对后代都单独饲

养。然后，用能杀死杂合子 95%个体的 Cry1Ac 活化毒素剂量（2.5 $\mu g/cm^2$，*rs* 基因型的 LC_{95}，根据抗性遗传分析的结果而确定）对每个单对 F_1 代 2 龄幼虫进行复筛，结果可能出现 3 种情况：(1)单对杂交的后代绝大部分死亡，说明来自田间的亲本是敏感纯合子（*ss*）；(2)死亡率在 50%左右，说明来自田间的亲本可能是抗性杂合子（*rs*），具有 1 个抗性基因；(2)几乎不出现死亡，这说明来自田间的亲本可能是抗性纯合子（*rr*），具有 2 个抗性基因。

2 结果与分析

2.1 2005 年河南安阳棉铃虫田间种群对 Cry1Ac 活化毒素的抗性基因频率

对来自 2005 年河南安阳种群的 9 984 头棉铃虫 2 龄幼虫进行了初筛，有 123 头幼虫可以健康存活（体重 > 5 mg），转移到正常饲料中饲养至化蛹。由于棉铃虫在生长过程中的死亡，共有 70 头成虫与 GYBT 抗性品系进行了单对交配，其中 22 个单对组合产生了有效的后代。

对 22 个单对组合的 F_1 代用 2.5 $\mu g/cm^2$ 的 Cry1Ac 活化毒素进行复筛。每个单对系处理 2 龄幼虫 48 头，只有 5 个单对组合 F_1 代的存活率在 50%左右（分别为 51%，50%，63%，53%和 52%；存活个体的平均体重均 > 7 mg），符合孟德尔分离比例（*rr* : *rs* = 1∶1），我们认为这 5 个单对组合的后代是 *rr*（室内基因型）× *rs*（田间基因型）杂交的结果。其余 17 个单对组合的 F_1 代存活率均小于 30%，存活个体的平均体重均 < 4 mg。因此，在这 22 个单对组合中，来自田间种群的亲本中有 5 头为杂合子（*rs*），17 头为敏感纯合子（*ss*），未发现抗性纯合子（*rr*）。

假设在初筛存活的 123 头幼虫中杂合子的比例与所测定的 22 个单对组合是相等的，并且田间种群的抗性为单基因控制，我们可以对抗性基因频率进行估算（表 1）。河南安阳种群的抗性基因频率 = $[(5 \div 22) \times 123] \div 9\,984 \div 2 \approx 1.4 \times 10^{-3}$。

表 1 棉铃虫田间种群对 Bt 毒素 Cry1Ac 抗性基因频率的估计

Table 1 Estimation of resistance (R) allele frequency to Bt toxin Cry1Ac of field populations of *Helicoverpa armigera*

种群来源 Population source	初筛幼虫数 Number of larvae for primary selection	初筛存活幼虫 Survivors from primary selection	交配单对数 Number of arranged single-pairs	有效单对数 Single-pairs with fertile eggs	*rs* 基因型田间亲本 Field parents with *rs* genotype	抗性基因频率估计 Estimated resistance allele frequency
河南安阳 Anyang, Henan	9 984	123	70	22	5	1.4×10^{-3}
河北沧县 Cangxian, Hebei	2 928	60	41	14	2	1.5×10^{-3}

2.2 2005 年河北沧县棉铃虫田间种群对 Cry1Ac 活化毒素的抗性基因频率

同样，对来自 2005 年河北沧县种群的 2 928 头棉铃虫 2 龄幼虫进行了初筛，有 60 头幼虫可以健康存活，转移到正常饲料中至化蛹。由于棉铃虫在生长过程中的死亡，41 头成虫与 GYBT 抗性品系进行了单对交配，其中 14 个单对组合产生了有效的后代。

对 14 个单对组合的 F_1 代用 2.5 $\mu g/cm^2$ 的 Cry1Ac 活化毒素进行复筛。有 2 个单对组合 F_1 代的存活率都在 50%左右（分别为 53%和 68%；存活个体的平均体重均 > 7 mg），其余 12 个单对组合的 F_1 代存活率均 < 30%，存活个体的平均体重均 < 4 mg。据此推断，来自河北沧县田间种群的亲本中有 2 头为杂合子（*rs*），12 头为敏感纯合子（*ss*）。按上述同样方法进行抗性基因频率的估算（表 1）。

河北沧县种群的抗性基因频率 = $[(2 \div 14) \times 60] \div 2\,928 \div 2 \approx 1.5 \times 10^{-3}$。

2.3 Cry1Ac 活化毒素对不同地区棉铃虫田间种群的毒力

Cry1Ac 活化毒素对不同地区棉铃虫田间种群的毒力见表 2。新疆沙湾和阿克苏 2004 年田间种群对 Cry1Ac 活化毒素都比较敏感。与最敏感的新疆阿克苏种群相比，河南安阳 2004 年田间种群对 Cry1Ac 活化毒素的相对敏感性要低 7.9 倍，河南安阳 2005 年田间种群低 5.2 倍，河北高阳 2004 年田间种群低 4.2 倍，河北沧县 2005 年田间种群低 2.6 倍。与新疆内陆棉区相比，华北棉区棉铃虫田间种群对 Cry1Ac 活化毒素存在一定程度的不敏感性。

3 讨论

昆虫对 Bt 毒素的抗性基因常常为不完全隐性或隐性，而且起始抗性基因频率比较低，因此很难用传统的生物测定方法检测抗性基因频率。Andow 和

表 2 Cry1Ac 活化毒素对不同地区棉铃虫田间种群的毒力

Table 2 Toxicity of Bt δ-endotoxin Cry1Ac to different field populations of *Helicoverpa armigera*

年份 Year	种群来源 Population source	斜率±标准误 Slope ± *SE*	LC_{50} ($\mu g/cm^2$) （95%置信限）（95% FL）	相对敏感性指数* Relative susceptibility ratio*
2004	河南安阳 Anyang，Henan	2.282 ± 0.336	0.197 (0.068 ~ 0.319)	7.9
2004	河北高阳 Gaoyang，Hebei	3.252 ± 0.466	0.106 (0.086 ~ 0.126)	4.2
2004	新疆阿克苏 Akesu，Xinjiang	1.233 ± 0.272	0.025 (0.008 ~ 0.041)	1.0
2004	新疆沙湾 Shawan，Xinjiang	1.634 ± 0.316	0.029 (0.014 ~ 0.043)	1.2
2005	河南安阳 Anyang，Henan	2.212 ± 0.296	0.131 (0.072 ~ 0.271)	5.2
2005	河北沧县 Cangxian，Hebei	2.029 ± 0.349	0.066 (0.050 ~ 0.084)	2.6

*：相对敏感性指数为与新疆阿克苏种群的 LC_{50}相比而得。Relative susceptibility ratio was determined by comparing with the LC_{50} of the population from Akesu，Xinjiang.

Alstad（1998）提出采用 F_2 筛查法（F_2 screen）检测低频率的抗性基因，该方法需要从田间采集大量已交配过的雌成虫以建立单雌系，再由每个单雌后代之间进行杂交获得 F_2 代。如果田间采集的雌成虫具备一个抗性基因（*rs*），理论上其 F_2 代大约会有 1/16 的抗性纯合子（*rr*）。最后通过区分剂量检测 F_2 代抗性个体频率的分布，就可以确定来自田间的雌成虫的抗性基因型，从而估算出抗性基因频率。该方法既可以检测隐性抗性基因，也可以检测显性抗性基因，但缺点是昆虫饲养要求高、工作量大、需要时间长。另外还存在一个问题是如何正确确定抗性检测方法及区分剂量。Zhao 等（2002）研究表明在进行 F_2 筛查时采用不同的抗性筛选方法直接影响抗性基因频率的高低。估计抗性基因频率的另一种常用方法为 F_1 筛查法（F_1 screen）。F_1 筛查法有两种变化形式：一种是 Gould 等（1997）提出的采用田间诱集雄成虫与室内选育的抗性纯合品系的雌成虫进行杂交，然后对 F_1 代幼虫进行抗性检测，该方法适合于检测田间种群中具有与室内品系相同抗性基因的频率；另一种为从田间采集雌成虫建立单雌系，直接检测 F_1 代幼虫的抗性，该方法适合于检测非隐性抗性基因（Burd *et al*.，2003；Li *et al*.，2004）。

本实验采用改进的 F_1 筛查法。我们实验室具备一个纯合抗性品系（GYBT），该品系对 Cry1Ac 的抗性为单个隐性基因控制，抗性遗传方式的研究结果使我们可以确定三种抗性基因型（*rr*，*rs* 和 *ss*）的区分剂量（Xu *et al*.，2005）。因此，我们参照 Gould 等（1997）提出的 F_1 筛查法，采用了 2 次筛选策略（初筛和复筛）。棉铃虫对 Cry1Ac 的抗性基因为单基因、不完全隐性遗传，基因频率较低，通过初筛对抗性基因库进行浓缩可以减少工作量，而且初筛后的雌、雄成虫都可以用来与室内抗性品系的成虫进行杂交。

基于 DNA 的分子检测无疑是最准确、可靠的方法，但该方法需要对田间种群的抗性基因具有深入的了解。Gahan 等（2001）发现对 Cry1Ac 毒素具有 10 128倍抗性的烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* YHD2 品系钙粘蛋白基因发生了插入突变；Morin 等（2003）报道棉红铃虫 *Pectinophora gossypiella* 对 Cry1Ac 的抗性（3 100 倍）与钙粘蛋白基因编码区的 3 个缺失突变型（*r*1，*r*2 和 *r*3）有关；本实验所采用的棉铃虫 GYBT 品系对 Cry1Ac 活化毒素的抗性也与钙粘蛋白的突变有关（Xu *et al*.，2005）。这些钙粘蛋白基因突变均在室内抗性品系中发现，在田间品系中可能存在多种等位基因，这给抗性基因分子检测增加了难度。本研究所发现的 7 个单对系的田间亲本可能携带了钙粘蛋白突变基因，这需要进一步进行基因克隆和检测，有可能发现与抗性相关的新等位基因。

Gould 等（1997）对采自美国 4 个州的 2 000 多头烟芽夜蛾雄蛾与实验室 Bt 抗性品系雌蛾进行杂交，估算出在转基因棉商业化种植前田间的抗性等位基因起始频率为 1.5×10^{-3}。在美国亚利桑那州，1997－2001 年间大规模种植转 Bt 基因棉，但棉红铃虫的抗性等位基因频率并未上升（Tabashnik *et al*.，2000；Carrière *et al*.，2001，2003；Sims *et al*.，2002）。在美国北卡罗莱纳州，Burd 等（2003）在 2000 年从田间采集的 583 头美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 雌蛾中，仅有 1 头携带抗性基因，其抗性等位基因频率为 4.3×10^{-4}。而 Jackson 等（2002）2001 年从田间采集了 561 头美洲棉铃虫雌蛾中均未携带抗性基因，表明其抗性等位基因频率并未上升。Andow 等（1998，2000）以及 Bourguet 等（2003）在转 Bt 玉米种植 5 年（1996－2001）间均未检测到欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 的抗性等位基因频率的上升。

关于我国棉铃虫对 Bt 毒素的抗性基因频率情

况有多篇报道。卢美光等(2000)用区分剂量法检测了 1996－1998 年华北棉区棉铃虫对 Bt 制剂的抗性个体频率，只在 1998 年检测到山东高密棉铃虫自然种群对 Bt 制剂的抗性个体频率为 9×10^{-3}，其余年份为 0。何丹军等(2001)用 F_2 代筛选法测定种植 1 年 Bt 抗虫棉的河北大田棉铃虫种群对 Bt 抗性等位基因频率为 5.8×10^{-3}。Li 等(2004)通过 F_1 筛查法检测到 2002 年采自河北安次县和山东夏津县的田间种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率分别为 1×10^{-3}和 0.6×10^{-3}左右。本实验结果表明，2005 年采自河南安阳和河北沧县的田间种群对 Cry1Ac 的抗性基因频率分别为 1.4×10^{-3}和 1.5×10^{-3}。总体上看，我国种植抗虫棉较早的华北棉区的棉铃虫田间种群还未出现明显的抗性上升，抗性基因频率还处于正常水平。近年来，有些地区出现的 Bt 抗虫棉抗虫效果不理想的情况可能与 Bt 抗虫棉品种的纯度和质量有关。但棉铃虫对 Bt 抗虫棉的抗性风险依然存在，本研究结果表明华北棉区棉铃虫田间种群对 Cry1Ac 的敏感性明显比新疆种群要低，我们对此绝不能掉以轻心。对常规农药产生抗性后可以换用其他类型的药剂，但抗虫棉品种的更换则是非常缓慢的。因此，相关政府部门必须做好两手准备，既要尽快启动全国性的早期抗性检测和预警工作，又要加快研发现有抗虫棉的替代品种，如转入与 Cry1Ac 不具交互抗性的 Bt 基因或其他类型的高效杀虫基因。

参考文献(References)

Akhurst RJ，James W，Bird LJ，Beard C，2003. Resistance to the Cry1Ac delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the cotton bollworm，*Helicoverpa armigera*（Lepidoptera：Noctuidae）. *J. Econ. Entomol.*，96（4）：1 290－1 299.

Andow DA，Alstad DN，1998. F_2 screen for rare resistance alleles. *J. Econ. Entomol.*，91（3）：572－578.

Andow DA，Alstad DN，Pang YH，Bolin PC，Hutchison WD，1998. Using an F_2 screen to search for resistance alleles to toxin in European corn borer（Lepidoptera：Crambidae）. *J. Econ. Entomol.*，91（3）：579－584.

Andow DA，Olson DM，Hellmich RL，Alstad DN，Hutchison WD，2000. Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ab in an Iowa population of European corn bore（Lepidoptera：Crambidae）. *J. Econ. Entomol.*，93（1）：26－30.

Bourguet D，Chaufaux J，Seguin M，Buisson C，Hinton JL，Stodola TJ，Porter P，Cronholm G，Buschman LL，Andow DA，2003. Frequency of alleles conferring resistance to Bt maize in French and US corn belt populations of European corn borer，*Ostrinia nubilalis*. *Theor. Appl. Genet.*，106（7）：1 225－1 233.

Burd AD，Gould F，Bradley JR，van Duyn JW，Moar WJ，2003. Estimated frequency of non-recessive Bt resistance genes in bollworm，*Helicoverpa zea*（Boddie）（Lepidoptera：Noctuidae）in Eastern North Carolina. *J. Econ. Entomol.*，96（1）：137－142.

Carriere Y，Ellers-Kirk C，Sisterson M，Antilla L，Whitlow M，Dennehy TJ，Tabashnik BE，2003. Long-term regional suppression of pink bollworm by *Bacillus thuringiensis* cotton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，100（4）：1 519－1 523.

Carriere Y，Tabashnik BE，2001. Reversing insect adaptation to transgenic insecticidal plants. *Proc. R. Soc. London Ser. B*，268：1 475－1 480.

Gahan LJ，Gould F，Heckel DG，2001. Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*. *Science*，283：857－860.

Gould F，Anderson A，Jones A，Sumerford D，Heckel DG，Lopez J，Micinski S，Leonard R，Laster M，1997. Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin in field population of *Heliothis virescens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，94（8）：3 519－3 523.

Gould F，Anderson A，Reynold A，Bumgarner L，Moar W，1995. Selection and genetic analysis of a *Heliothis virescens*（Lepidoptera：Noctuidae）strain with high level of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin. *J. Econ. Entomol.*，88（6）：1 545－1 559.

He DJ，Shen JL，Zhou WJ，Gao CF，2001. Using F_2 genetic method of isofemale lines to detect the frequency of resistance alleles to *Bacillus thuringiensis* toxin from transgenic Bt cotton in cotton bollworm of resistance alleles（Lepidoptera：Noctuidae）. *Cotton Science*，13(2)：105－108.［何丹军，沈晋良，周威君，高聪芬，2001. 应用单雌系 F_2 代法检测棉铃虫对转 Bt 基因棉抗性等位基因频率. 棉花学报，13（2）：105－108］

Jackson RE Jr，Bradley JR，Gould F，van Duyn JW，2002. Genetic variation for resistance to Cry1Ac and Cry2Ab in bollworm，*Helicoverpa zea*，in North Carolina. Proc. Beltwide Cotton Conf.，Atlanta，GA，USA.

James C，2005. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops：2005 ISAAA Brief No.34. ISAAA：Ithaca，New York.

Li GP，Wu KM，Gould F，Feng HQ，He YZ，Guo YY，2004. Frequency of Bt resistance genes in *Helicoverpa armigera* populations from the Yellow River cotton-farming region of China. *Entomol. Exp. Appl.*，112（2）：135－143.

Liang GM，Tan WJ，Guo YY，2000. Study on screening and inheritance mode of resistance to Bt transgenic cotton in cotton bollworm. *Acta Entomol. Sin.*，43（Suppl.）：57－62.［梁革梅，谭维嘉，郭予元，2000. 棉铃虫对转 Bt 基因棉的抗性筛选及遗传方式的研究. 昆虫学报，43（增刊）：57－62］

Lu MG，Zhao JZ，Fan XL，Rui CH，Wei C，Liang GM，2000. Resistance monitoring of *Helicoverpa armigera*（Hübner）to *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins in North China. *Cotton Science*，12（4）：180－183.［卢美光，赵建周，范贤林，芮昌辉，魏岑，梁革梅，2000. 华北地区棉铃虫对 Bt 杀虫蛋白的抗性监测. 棉花学报，12（4）：180－183］

Meng FX，Shen JL，Zhou WJ，Cen HM，2004. Long-term selection for resistance to transgenic cotton expressing *Bacillus thuringiensis* toxin in *Helicoverpa armigera*（Hübner）（Lepidoptera：Noctuidae）. *Pest. Manag. Sci.*，60：167－172.

Morin S, Biggs RW, Sisterson MS, Shriver L, Ellers-Kirk C, Higginson D, Holley D, Gahan LJ, Heckel DG, Carriere Y, Dennehy TJ, Brown JK, Tabashnik BE, 2003. Three cadherin alleles associated with resistance to *Bacillus thuringiensis* in pink bollworm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100 (9): 5 004 – 5 009.

Sims MA, Dennehy TJ, Shriver L, Holley D, Carrière Y, Tabashnik BE, Antilla L, Whitlow M, 2002. Susceptibility of Arizona Pink Bollworm to Cry1Ac. Proc. Beltwide Cotton Conf., Atlanta, GA, USA.

Tabashnik BE, Carriere Y, Dennehy TJ, Morin S, Sisterson MS, Roush RT, Shelton AM, Zhao JZ, 2003. Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field. *J. Econ. Entomol.*, 96 (4): 1 031 – 1 038.

Tabashnik BE, Liu YB, Finson N, Masson L, Heckel DG, 1997. One gene in diamondback moth confers resistance to four *Bacillus thuringiensis* toxins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94 (5): 1 640 – 1 644.

Tabashnik BE, Patin AL, Dennehy TJ, Liu YB, Carriere Y, Sims MA, Antilla L, 2000. Frequency of resistance to *Bacillus thuringiensis* in field population of pink bollworm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97 (24): 12 980 – 12 984.

Wang GR, Wu KM, Liang GM, Guo YY, 2005. Gene cloning, expression of cadherin in midgut of *Helicoverpa armigera* and its Cry1A binding region. *Science in China*, 48 (4): 346 – 356. [**王桂荣，吴孔明，梁革梅，郭予元**，2004. **棉铃虫中肠钙粘蛋白基因的克隆、表达及**Cry1A **结合区定位**. **中国科学**(C **辑 生命科学**), 34 (6): 537 – 546]

Xu XJ, Yu LY, Wu YD, 2005. Disruption of a cadherin gene associated with resistance to Cry1Ac δ-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(2): 948 – 954.

Zhao JZ, Li YX, Collins HL, Shelton AM, 2002. Examination of the F_2 screen for rare resistance alleles to *Bacillus thuringiensis* toxins in the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.*, 95 (1): 14 – 21.

(责任编辑：黄玲巧)